

# 钛系生物医用材料表面粗糙度影响 细胞黏附的新进展\*

梁迎春 宋代平 陈明君 白清顺  
(哈尔滨工业大学精密工程研究所 哈尔滨 150001)

**摘要:** 详细介绍粗糙表面细胞的黏附机理, 结合表面加工方法较全面地总结和分析钛系材料不同表面粗糙度对细胞黏附的影响及细胞黏附的表面粗糙度模型。综述表明: 粗糙表面通过改变表面力场、表面电荷和表面能、增加比表面积及表面缺陷等方式促进细胞在植入体表面的黏附; 钛系材料表面粗糙度对不同细胞黏附的影响不同, 粗糙表面可促进细胞基因表达; 由于表面加工方法造成表面化学状态变化并影响表面电荷和表面能, 所以应根据不同的表面加工方法来设计植入体的表面形貌, 以获得适合细胞黏附的表面粗糙度。此外, 探讨钛表面细胞吸附的分子动力学研究方法, 结果显示可利用分子动力学方法在分子水平研究表面特征对蛋白质和细胞黏附的影响机理。

**关键词:** 钛系生物医用材料 表面粗糙度 细胞黏附 生物分子动力学仿真

**中图分类号:** TG146.2

## New Development on Effect of Surface Roughness of Ti-material for Biomedical Applications on Cell Adhesion

LIANG Yingchun SONG Daiping CHEN Mingjun BAI Qingshun  
(Precision Engineering Research Institute, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001)

**Abstract:** The mechanisms of cell adhesion on rough surface are introduced in detail, the effects of various roughness of Ti-material surface on cell adhesion and the models of effects of surface roughness on cell adhesion are summarized and analyzed comprehensively by taking into consideration surface processing methods. The summary shows that the rough surface promotes cell adhesion by altering surface force field, surface charge and surface energy, increasing specific surface area and surface defect etc. The surface roughness of Ti-material has different effect on adhesion of different cell types, and the rough surface promotes the expression of cell genes. Because surface processing can change the surface chemistry and affect surface charge and energy, surface processing methods should be taken into account in order to design the implant surface morphology with the proper surface roughness for cell adhesion. Moreover, the method of molecular dynamics simulation for cell adsorption on titanium surface is explored, which shows that the effect mechanisms of surface characteristics on protein and cell adhesion on titanium surface can be studied through molecular dynamics simulation at the molecule level.

**Key words:** Ti-material for biomedical applications Surface roughness Cell adhesion Biomolecular dynamics simulation

### 0 前言

钛系材料由于其最佳的生物相容性、骨骼融合性、抗蚀性、生物功能性及成本而被广泛选用为生物医用金属材料<sup>[1]</sup>。钛系材料在临床上较多应用始于 20 世纪 70 年代中期, 目前已在整形外科、口腔与颌面外科、颅脑外科、心血管系统等领域获得广

泛应用。

生物材料植入体直接通过其表面与生物体细胞、组织相互作用, 植入体的表面属性可确定细胞黏附、增殖和分化, 最终决定组织的生长质量, 也是直接影响植入是否成功的重要因素。影响植入体与细胞组织界面的植入体表面性质包括植入体的表面化学状态和表面形貌等<sup>[2-3]</sup>, 而其主要影响因素就是微观几何和表面粗糙度<sup>[4-5]</sup>。人们通常认为粗糙的、有纹理的、多孔的表面可刺激细胞黏附、分化和细胞基质的形成<sup>[3-6]</sup>。

\* 国家自然科学基金(50675050)和哈尔滨工业大学交叉基金(HIT-MD2003.10)资助项目。20070830 收到初稿, 20080218 收到修改稿

细胞黏附是生物体与生物材料相互作用的第一阶段，对随后的增殖、分化、迁移和凋亡阶段非常关键，且进一步影响骨组织形成前骨细胞的增殖和分化<sup>[7]</sup>。近年来，关于表面粗糙度对细胞黏附影响的研究很多，主要研究内容包括粗糙表面影响细胞黏附的机理、表面加工方法及其所获表面粗糙度对细胞生物反应的影响机制、细胞黏附的表面粗糙度模型构建等方面，并取得了众多成果。但由于表面粗糙度评价参数众多、所用表面加工方法及细胞类型不同等方面的问题，使得钛系生物材料对细胞黏附影响研究的结果相差较大。本文结合这些问题较全面地讨论了钛系生物医用材料表面粗糙度对细胞黏附的影响，探讨了钛表面细胞黏附的分子动力学研究方法，希望能对植入体的设计和加工、细胞黏附肽图案化及其他相关研究提供有用信息。

### 1 粗糙表面细胞的黏附机理

生物医用材料植入生物体后，表面突然处于细胞生物环境中，水分子首先以纳秒尺度到达植入体表面并形成水壳。表面水壳影响随后以微毫秒尺度到达的蛋白质和其他分子的相互作用。水溶性生物分子表面也存在水合层，表面水壳与生物分子水合层相互作用并影响界面上的分子基本运动过程和热力学，如决定蛋白质的变性、取向和覆盖度等。最后，细胞到达表面，通过蛋白质覆盖层与表面相互作用，而表面水吸附层又确定蛋白质层性质，如图 1 所示<sup>[8]</sup>。

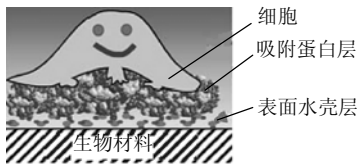


图 1 生物材料植入生物体后的表面微观作用

因而，当论及细胞—表面相互作用时，最终是指细胞和表面结合蛋白(或其他生物分子)的相互作用。仿生表面见图 2<sup>[8]</sup>，植入体清洁表面由一层天然膜或人造膜(支撑双层)覆盖，内嵌细胞膜表面蛋白(受体)，通过受体和接近基质表面的细胞直接相互作用(键合或提供 I/O 信号等)。生物覆盖层功能单元尺寸范围变化很大，亚纳米尺度的水分子和小蛋白质，10 nm 范围的细胞膜和超分子配合物，到微米级的细胞，最后是宏观尺度的有机组织和器官。

可见，细胞的黏附由细胞膜表面蛋白(受体)与细胞外基质、其他细胞表面或生物材料表面的蛋白质(配体)的相互作用介导<sup>[9]</sup>，受体和配体分子缔合成

复合物<sup>[10]</sup>。

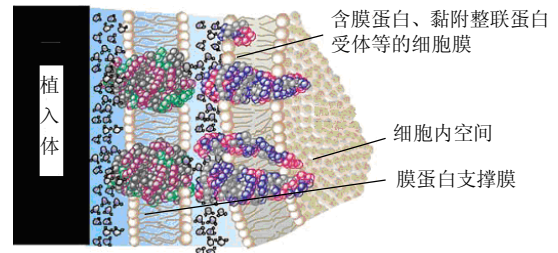


图 2 仿生表面

黏着斑黏附是细胞与基质黏附接触的常见形式。黏着斑由整联蛋白作为主要黏附受体和相关细胞质斑蛋白(包括踝蛋白、纽蛋白、 $\alpha$  肌动蛋白、张力蛋白、桩蛋白和大量蛋白激活酶)组成，是细胞黏附和运动协同作用的位点，如图 3<sup>[11]</sup>。整联蛋白作为一种  $\alpha$ 、 $\beta$ —杂二聚体跨膜蛋白，与黏附分子配体和细胞骨架蛋白及一些细胞内信号分子相连。

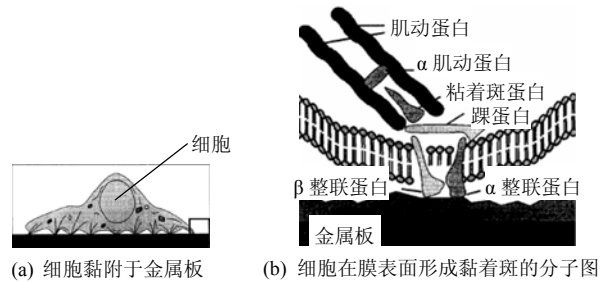


图 3 黏着斑黏附

然而，植入体实际表面是不规则而粗糙的，存在着无数台阶、裂缝和凹凸不平的峰谷。粗糙表面会引起表面力场变化，进而影响其表面性质，如表面粗化后的形貌可改变植入体的表面电荷和表面能<sup>[12-13]</sup>。生物材料的表面自由能对细胞的黏附、延展和生长具有重要影响。一般来说，表面能较高的表面相对于表面能较低的表面更有利于细胞的黏附和延展<sup>[14-15]</sup>。例如，通过对成纤维细胞的研究表明，只有表面能达到  $57 \times 10^{-7} \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$  时，细胞才能进行很好的延展<sup>[16]</sup>。

粗糙表面还直接影响到植入体比表面积、内外表面积比值以及与之相关的属性，如强度、密度、润湿、孔隙率和孔隙结构、透气性和浸透性等。与蛋白质相互作用时，粗糙形貌可暴露更多的表面区域。例如与平整的表面相比，带沟槽和坑的表面具有的表面积更多，加工痕迹等其他的表面特征也可为与蛋白质的相互作用提供额外位置。

通常，表面越粗糙、比表面积越大，表面能也越高、表面羟基团越多，这可在钛表面产生更多的表面活性点和更高的热力学反应潜力，从而更有利于细胞(如成骨细胞)附着和增殖<sup>[6]</sup>。

总之,生物材料表面的细胞黏附主要通过吸附在材料表面的细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)作用,而表面性能通过影响对 ECM 蛋白的吸附,或者通过改变吸附蛋白的构象影响细胞的黏附。TER BRUGGE 等<sup>[17]</sup>证实表面特征(如表面粗糙度)通过整联蛋白影响 U2OS 细胞与材料的初期相互作用。MARTIN 等<sup>[18]</sup>认为粗糙的种植体表面能够吸附更多的纤连蛋白(Fibronectin, FN)大分子,通过这些大分子的作用而促进细胞的黏附与增殖。此外,当细胞黏附不通过 ECM 蛋白的作用时,植入体表面性能还可通过带负电的细胞膜与带正电的基材之间的静电作用而影响细胞的黏附<sup>[19]</sup>。

## 2 表面粗糙度影响细胞黏附试验

国内外学者对钛系生物医用材料植入体表面粗糙影响细胞黏附的试验研究很多,本文主要以表面加工方法及其表面形貌特征进行分类介绍。

### 2.1 车削和光刻

车削是最常用的切削加工方法,平均表面粗糙度参数  $R_a=0.3\sim 3.4\ \mu\text{m}$ 。车削加工出的表面具有规则的沟槽,一定程度的沟槽可促进成纤维细胞、成骨细胞、上皮细胞和神经轴突等形成接触诱导,即细胞在材料表面的生长取向受材料表面形貌调控。BIGERELLE 等<sup>[20]</sup>和 ANSELME 等<sup>[21]</sup>指出人体成骨细胞沿  $150\ \mu\text{m}$  宽  $0.6\ \mu\text{m}$  深或  $200\ \mu\text{m}$  宽  $1.2\ \mu\text{m}$  深的平行车削表面的沟槽取向。

对不同的表面轮廓形貌组织细胞生物反应不同,平行和交叉沟槽并不能以相同的方式被细胞识别。ANSELME 等<sup>[22-23]</sup>采用车削交叉沟槽的方法在钛基质表面形成多种凹坑,约  $200\ \mu\text{m}$  宽  $5.5\ \mu\text{m}$  深,其尺寸(尤其宽度)可能太大以至于不能促使细胞在凹坑内或凸脊周围进行任何优先黏附。

沟槽的深度比间距对细胞取向的影响更大。CLARK 等<sup>[24]</sup>采用光刻法形成不同参数的凹槽表面(深  $0.2\sim 1.9\ \mu\text{m}$ ,间距  $4\sim 24\ \mu\text{m}$ )和三种不同的细胞证明,凹槽表面细胞的成列性与凹槽的深度有很大关系,与凹槽间距的关系较弱,沟槽越深导向性越大;并与细胞的种类和大小有关。对较深较窄的沟槽,细胞可峰峰搭桥取向(图 4<sup>[25]</sup>),主肌动蛋白聚集(图中黑点),肌动蛋白微丝向细胞下部中心延伸,细胞仅对峰脊产生有效反应<sup>[26-27]</sup>。



图 4 细胞通过峰峰搭桥沿沟槽取向的横截面图

### 2.2 磨削

为了获得更光滑的植入体表面,可用不同粒度的砂纸和金刚石砂布对工件表面磨削,磨粒越细表面越光滑。通常,其表面粗糙度  $R_a=0.05\sim 1.20\ \mu\text{m}$ 。

磨削可在样本表面形成与磨削方向相关的沟槽纹理结构,一定程度的沟槽可促进形成细胞接触诱导。例如成骨细胞在  $R_a>0.3\ \mu\text{m}$  的研抛钛表面上可形成接触诱导;而且表面越粗糙,表面的沟槽和峰脊越明显,成骨细胞也越易形成接触诱导<sup>[1,28-30]</sup>。

关于成骨细胞的黏附性,众多研究<sup>[13,28-29,31]</sup>表明  $R_a=0.1\sim 0.2\ \mu\text{m}$  的研抛钛合金表面比更粗糙或更光滑的表面好,  $R_a=0.3\sim 0.4\ \mu\text{m}$  的表面也较更粗糙的表面好。如 HUANG 等<sup>[28]</sup>研究了磨削钛表面粗糙度( $R_a=0.05\sim 1.20\ \mu\text{m}$ )对 U-2 OS 成骨细胞的初期黏附影响,抛光表面存在平行的纵向沟槽和峰脊,其 1 500# 钛样本( $R_a=0.15\ \mu\text{m}$ )细胞黏附最好,而 600# 和 120# 样本( $R_a$  分别为  $0.33$  和  $1.20\ \mu\text{m}$ )观察到细胞接触诱导,细胞沿样本表面沟槽扩展(图 5<sup>[28]</sup>)。

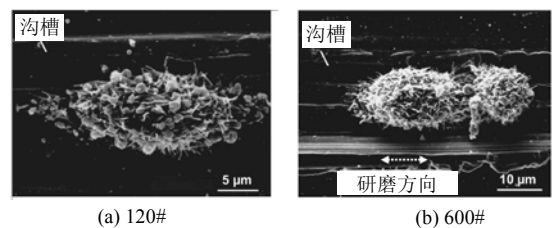


图 5 细胞培养 2 h 后沿表面沟槽接触诱导

然而,DELIGIANNI 等<sup>[32]</sup>指出  $R_a=0.30\ \mu\text{m}$  磨削 Ti6Al4V 表面的初期细胞数比  $R_a=0.87、0.49\ \mu\text{m}$  磨削表面的低,且与其他表面粗化加工相比,一些研究<sup>[32-36]</sup>指出在  $S_a>1\ \mu\text{m}$  的粗糙表面(如喷砂处理)成骨细胞附着更好。

与成骨细胞正好相反,成纤维细胞在光滑表面黏附速度更高,表面粗糙度调整成纤维细胞分布<sup>[37-38]</sup>,而且表面越光滑成纤维细胞的增殖速度越高。亚微米尺度上的表面形貌控制成纤维细胞取向,其导向程度一般取决于表面粗糙度。例如 PONSONNET 等<sup>[39-40]</sup>指出, NiTi 样本表面平行沟槽控制成纤维细胞的取向,在粗糙样本表面( $R_a=1.02\ \mu\text{m}$ )细胞沿机械抛光加工形成的沟槽平行方向生长,沟槽越深,导向性越清楚;而在光滑表面上( $R_a=0.057\ \mu\text{m}$ )细胞似乎并未沿特定的方向生长,见图 6<sup>[39]</sup>。

此外, PONSONNET 等<sup>[39-40]</sup>的研究也显示, NiTi 合金具有卓越的生物相容性(NiTi 样本的细胞增殖比表面粗糙度数量级相同的 Ti6Al4V、cp-Ti 和不锈钢表面高)。虽然迄今还没有证据直接表明 NiTi 合

金中 Ni 的危害性,但 TRIGWELL 等指出 NiTi 表面机械抛光的表层 Ni 质量分数高而不适于生物医学应用<sup>[41]</sup>,电解抛光、钝化和热处理可为 NiTi 提供可接受的生物相容性表面<sup>[42]</sup>。

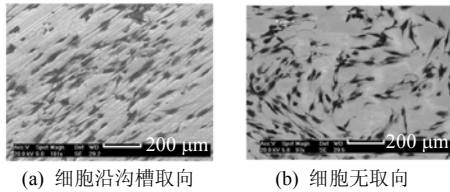


图6 成纤维细胞在机械磨削 NiTi 表面的取向性

### 2.3 热处理

抛光后热处理对 NiTi 合金表面形貌影响极大,温度越高(400~600 °C)表面越粗糙<sup>[43]</sup>。NiTi 合金表面 600 °C 热处理可形成向外生长的氧化物,使表面镍含量很少,可显著改善 NiTi 合金的生物相容性<sup>[43]</sup>。然而,酸蚀后热处理退火(700~800 °C)却对钛表面粗糙度基本无影响,仅使氧化层厚度增加显著(6倍以上,达 30 nm)<sup>[44]</sup>。

不同温度热轧处理将使钛合金样本  $\alpha$  和  $\beta$  相钛比例不同,改变其晶相结构,造成磨削后表面粗糙度也不同,而粗糙表面可增加成骨细胞转化生长因子- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 的产生<sup>[45-46]</sup>。因而不同热轧温度对 TGF- $\beta$  比活度的影响非常显著。此外,热轧温度还可引起植入体原子尺度上的表面能和表面张力的改变。细胞似乎可识别这些变化,因为细胞在基质上的附着是细胞存活的必要因素<sup>[31]</sup>。

KAPANEN 等<sup>[31,47]</sup>研究了钛合金表面不同温度(850、950 和 1 050 °C)热轧预处理再磨削对 ROS-17/2.8 成骨细胞黏附的影响。研究<sup>[47]</sup>表明,950 °C 热轧 NiTi 合金粗糙表面可促进成骨细胞中 TGF- $\beta$ 1 的显型, NiTi 表面越粗糙( $R_a$  分别为 95.21、155.97 和 362.17 nm) TGF- $\beta$ 1 浓度越高。若不考虑材料的影响,表面粗糙度  $R_a=100\sim 400$  nm 时死亡细胞数最低,细胞黏着斑黏附最多<sup>[31]</sup>。成骨细胞大量黏附于最粗糙的 NiTi 表面(NiTi 80,  $R_a=362.2$  nm) 和最光滑的 Ti 合金表面(TiI 1200,  $R_a=304.8$  nm 和 TiII 1 200,  $R_a=339.2$  nm), 见图 7<sup>[31]</sup>。

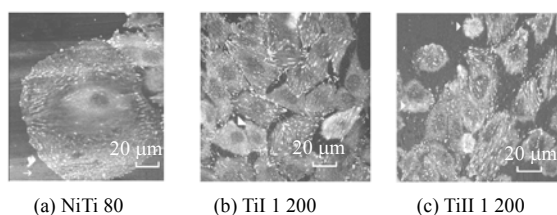


图7 ROS-17/2.8 在不同粗糙表面培养的共焦显微镜像

### 2.4 喷砂

将一定粒度的砂粒高速射向被加工表面,除可提高工件表面硬度和耐磨性及产生残余压应力外,还可使表面变得相当粗糙,极大地增加了表面面积。喷砂处理的  $R_a$  值变化范围很大,为 0.5~1.5  $\mu\text{m}$  甚至 2~6  $\mu\text{m}$ , 其值取决于喷砂的粒子尺寸,粒子越大,喷丸表面越粗糙。通常喷砂处理所用的粒子为氧化铝、碳化硅、金红石和羟基磷灰石。由于与钛表面化学成分相似,首选金红石( $\text{TiO}_2$ )。

植入体表面喷砂处理比机械加工对骨结合更好<sup>[48-49]</sup>。众多研究<sup>[22,33-35,50]</sup>指出钛喷砂表面人体成骨细胞黏附高。与普通钛板相比,  $\text{TiO}_2$  微粒喷砂钛板上的成骨细胞表达出更多的 TGF- $\beta$ 1 和前列腺素 E2 (PGE2, 免疫抑制物质)<sup>[51]</sup>。但与电解腐蚀、酸蚀等表面加工方法相比,一些研究<sup>[21,52]</sup>指出喷砂处理使表面组织性较低,致使细胞黏附和增殖也较低。文献<sup>[20,52]</sup>指出喷砂钛表面  $R_z$  和分形维数  $\Delta$  均较高,存在大量低于细胞尺度的不规则特征,细胞/细胞间质/材料基质(Cell/matrix/substrate, CMS)间的黏附和增殖较差。不过, RONOLD 等的研究表明较光滑的电解抛光钛表面( $S_a=0.63$   $\mu\text{m}$ <sup>[48]</sup>)和较粗糙的酸蚀钛表面( $S_a=5.07$ 、11.03  $\mu\text{m}$ <sup>[53]</sup>)均无 180~220  $\mu\text{m}$   $\text{TiO}_2$  喷砂钛表面( $S_a=3.62\sim 3.90$   $\mu\text{m}$ <sup>[48]</sup>)的骨结合强度大。

成骨细胞的生长受表面喷砂氧化钛微粒大小的影响,存在最佳的微粒尺寸。RONOLD 等<sup>[48]</sup>详细比较了不同尺寸  $\text{TiO}_2$  粒子对钛表面喷砂处理的影响,表面粗糙度  $S_a$  和  $S_{dr}$  与  $\text{TiO}_2$  粒子尺寸有关,  $\text{TiO}_2$  粒子越大喷砂表面越粗糙;表面粗糙度与细胞附着有关,皮层骨内的钛植入体最佳  $\text{TiO}_2$  粒子喷砂尺寸范围是 180~220  $\mu\text{m}$ 。而其他学者对  $\text{TiO}_2$  微粒喷砂钛表面的研究表明,  $\text{TiO}_2$  微粒大小在 63~90  $\mu\text{m}$  ( $S_a=0.72$   $\mu\text{m}$ ) 时,对成骨细胞生长的促进作用较强<sup>[35]</sup>,颗粒直径太大超过 300  $\mu\text{m}$  ( $S_a=1.38$   $\mu\text{m}$ ) 并不能提高细胞黏附率<sup>[34]</sup>(与文献<sup>[48]</sup>一致)。

钛表面粗糙度将影响成骨细胞整联蛋白亚基  $\beta$ 1,  $\alpha$ 5 和  $\beta$ 3 的表达,而且对不同纹理的钛表面  $\beta$ 3 与  $\beta$ 1 和  $\alpha$ 5 的行为不同。与光滑的机械抛光钛表面相比,更为粗糙的车削、玻璃球(180~300  $\mu\text{m}$ )喷砂和氧化铝(500~600  $\mu\text{m}$ )喷砂表面上的  $\beta$ 1 和  $\alpha$ 5 表达稍有增加;而  $\beta$ 3 在车削和玻璃球喷砂表面的表达很高,且在最粗糙的氧化铝喷砂上的表达最高<sup>[54]</sup>。

表面形貌还能改变成骨细胞的黏附类型。正常情况下,成骨细胞整联蛋白亚基  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 能从焦点黏附转移为纤维黏附<sup>[55]</sup>。但粗糙表面会影响这种转移,  $\beta$ 1 和  $\alpha$ 5 在粗糙的钛表面不可能形成纤维黏附。

例如人体原代成骨细胞整联蛋白亚基  $\beta 1$  在较光滑的机械抛光表面和车削表面形成纤维黏附(图 8a 和 8b<sup>[54]</sup>); 在玻璃球喷砂表面坑洞和隆起边缘处  $\beta 1$  簇聚而在光滑表面形成纤维黏附(图 8c); 在最粗糙的氧化铝喷砂钛表面  $\beta 1$  沿峰脊陡缘处簇聚并形成焦点黏附, 而无纤维黏附(图 8d)。成骨细胞  $\alpha 5$  整联蛋白黏附的分布模式与  $\beta 1$  的相同<sup>[54]</sup>。然而, 成骨细胞  $\beta 3$  亚基在所有钛表面均形成焦点黏附而无纤维黏附。

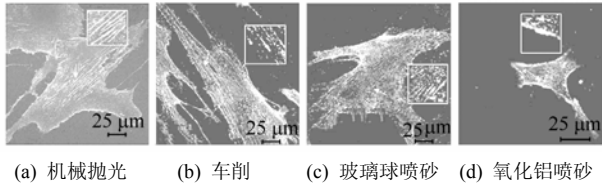


图 8 人体原代成骨细胞整联蛋白亚基  $\beta 1$  在钛表面的分布

## 2.5 酸蚀

机械加工(车削、磨削和喷砂)后, 常为了改变宏观表面特性而对钛基材料进行酸蚀处理。酸蚀通常使表面峰谷平整化, 在原表面生成一层新的粗糙表面。并且酸浓度越大, 表面越粗糙。通常, 酸蚀表面粗糙度  $R_a=1.5\sim 5.0\ \mu\text{m}$ 。

大粒子喷砂后再酸蚀处理 (Sandblasted large-grid and acid-etched, SLA)使表面具有不同的形貌和不同的化学成分的特点, 更有利于成骨细胞生长和分化<sup>[20,49]</sup>, 广泛用于钛及钛合金的表面处理。正如 PERRIN 等<sup>[56]</sup>指出的, 机械处理和化学处理相结合似乎可决定植入材料的反常变形(由表面形貌引起), 反过来, 又影响了表面的亲水性, 最终影响了材料与生物组织相互作用的能力。

此外, ERIKSSON 等<sup>[57]</sup>研究表明, 表面粗糙度也影响白细胞黏附。单核细胞在粗糙的酸蚀表面 ( $R_{\text{rms}}=1.9\ \mu\text{m}$ )比光滑的机械抛光表面( $R_{\text{rms}}=0.45\ \mu\text{m}$ )的表面覆盖率大。

## 2.6 电化学加工

电解抛光产生微米级的抛光作用, 形成化学活性稳定的光滑氧化层(厚度小于  $5\ \text{nm}$ ), 这可增强 NiTi 合金表面的耐蚀性稳定性<sup>[41,58]</sup>。阳极氧化对表面形貌改变不大, 但可使表面氧化层从通常的  $5\sim 10\ \text{nm}$  厚增加到  $40\ \text{nm}$  厚, 甚至达  $180\sim 200\ \text{nm}$ 。

电解腐蚀产生金属材料的局部溶解, 易于形成复杂几何形貌, 是骨植入体表面加工的一种有适用前景的方法<sup>[20,22]</sup>。通常, 钛系材料植入体电解腐蚀的表面粗糙度  $R_a=0.5\sim 4.0\ \mu\text{m}$ 。

BIGERELLE 等<sup>[20]</sup>认为: 对低于细胞尺度的微观表面形貌, 人体成骨细胞喜欢少间断的各向同性

光滑表面; 而对大于细胞尺度的宏观表面形貌, 则喜欢各向同性的粗糙形貌(有许多适于细胞黏附和生长的“碗状窝”, 见图 9<sup>[20]</sup>), 电解腐蚀正好能提供这样的表面形貌。

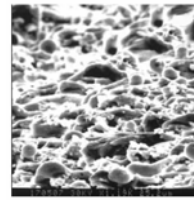


图 9 电解腐蚀钛表面 SEM 图  $\times 190$

ANSELME 等<sup>[22-23]</sup>的研究也表明, 在均匀的粗糙表面(电解腐蚀、喷砂或酸蚀)比光滑表面(抛光或车削)的黏附能(Adhesion power, AP)更高, 人体成骨细胞在电解腐蚀表面和粗糙的喷砂表面附着好(图 10<sup>[22]</sup>)。

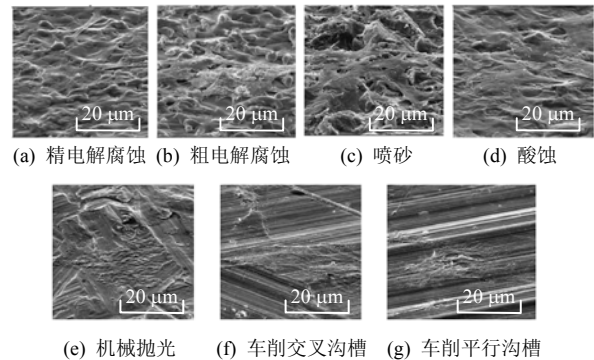


图 10 各种加工钛表面细胞培养 1 d

电解腐蚀表面人体成骨细胞增殖和 CMS 黏附高可能与 CURTIS 和 CLARK 等的假设有关, 他们把曲率半径小于平均伪足长度或小于运动控制感应元平均间距定义为间断特征<sup>[25]</sup>, 认为细胞对表面间断有所反应<sup>[59]</sup>。BIGERELLE 等<sup>[20]</sup>认为抛光表面不能提供所需的间断特征或提供的间断特征的幅值  $R_z$ 、频率  $O_{\text{order}}$  太小以至于不允许细胞取向或不适于黏附。虽然只有车削沟槽粗糙表面呈现的间断特征其轮廓幅值和频率足以改善细胞黏附, 但所有车削沟槽表面的间断特征使细胞取向最小。

电解腐蚀钛表面人体成骨细胞的黏附主要受表面粗糙度影响, 而非表面化学成分的影响。因为 Ti6Al4V 和纯钛的电解腐蚀表面细胞黏附相同, 然而这两种基质的表面化学成分是不同的。而且, 基质表面惰性纳米金属层也不影响成骨细胞黏附<sup>[22]</sup>。

## 2.7 等离子加工

等离子体喷涂不仅可喷涂  $\text{TiO}_2$  涂层和羟基磷灰石 HA 涂层, 而且可形成三维的多孔或凹槽网状结构, 为细胞提供更多的接触面积, 使钩状凹凸植

入表面有利于细胞附着和扩展。通常, 等离子体喷涂表面粗糙度  $R_a=4\sim 8\ \mu\text{m}$ 。

有学者<sup>[60]</sup>认为腐蚀加工破坏了 NiTi 合金的表面氧化层, 这种形态学表面改性方法使金属基体与组织直接接触, 对 NiTi 合金非常不利, 合金中镍如果没有其他保护层的阻碍, 在体液中将会很快溶出。因此, NiTi 合金的表面微粗糙化后应结合  $\text{TiO}_2$  涂层的方法来尽量减少其镍溶出的可能性和速率, 从而提高材料的生物相容性。

POSTIGLIONE 等<sup>[61]</sup>发现, 钛等离子喷涂 (Titanium plasma-sprayed, TPS) 钛表面比喷砂钛表面和相对光滑的机械加工钛表面类成骨细胞整联蛋白受体亚基  $\alpha_2$ 、 $\alpha_5$ 、 $\alpha\nu\beta_3$  和  $\beta_1$  表达高。

与光滑的机械抛光和粗糙的 SLA 钛表面相比, 更粗糙的 TPS 钛表面上生长的成骨细胞基因表达影响最显著<sup>[62]</sup>。细胞培养 3 h 后的 SEM 显示, 机械抛光表面细胞扩展充分, 圆形细胞非常少(图 11a<sup>[62]</sup>); SLA 表面细胞扩展度比机械抛光表面差, 仍有很多圆形细胞(图 11b); 相比之下, TPS 表面细胞不仅细胞附着好, 有无数的胞质突, 圆形细胞非常少(图 11c), 不同时期的细胞数增加也最多。

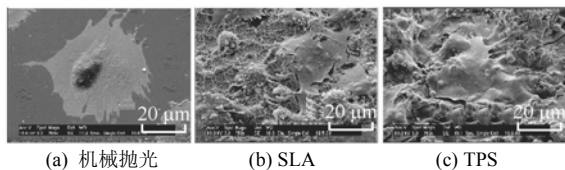


图 11 不同钛表面牙槽骨细胞培养 3 h SEM 图

空气等离子溅射 (Air plasma-sprayed, APS) 加工参数不影响成骨细胞的形貌和增殖, 但一定程度上受  $\text{TiO}_2$  涂层样本表面粗糙度和多孔性影响<sup>[5]</sup>。KIM 等<sup>[5]</sup>对 Ti6Al4V 材料进行 APS  $\text{TiO}_2$  涂层, 溅射距离和  $\text{H}_2$  气流速度对表面粗糙度的影响很大, 特别是溅射距离的影响更显著, 溅射距离越小表面越粗糙。表面粗糙引起的展开表面面积增加有利于骨和生物材料界面的接合。最粗糙的钛合金表面 ( $R_a=8.08\ \mu\text{m}$ ) MG63 类成骨细胞最多。类成骨细胞附着末梢扩展充分, 形成许多从细胞团底部延伸出的丝状伪足(图 12<sup>[5]</sup>)。

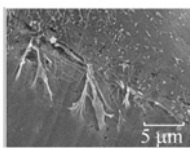


图 12 APS 钛合金表面细胞培养 3 d SEM 图

## 2.8 光化学加工

利用照相复制和化学腐蚀相结合的技术, 在植

入体表面加工出精密复杂的凹凸图形或形状复杂的植入体。

微米尺度和纳米尺度表面粗糙度协同影响细胞黏附增殖。ZINGER 等<sup>[3]</sup>采用掩膜微细电化学加工将钛表面加工成 10、30 和 100  $\mu\text{m}$  的微米尺度半球状凹坑, 结果表明亚微米尺度表面粗糙度有利于 MG63 成骨细胞形成多而长的线状伪足; 六边形排列的直径 30 和 100  $\mu\text{m}$  光滑半球状凹坑上, 成骨细胞优先在凹坑内附着; 直径 30  $\mu\text{m}$  凹坑微结构多孔阳极氧化表面培养 3 d 后的细胞密度比其他表面的高。

## 2.9 激光加工

利用激光束与物质相互作用的特性对材料进行表面处理和微加工。

飞秒激光可加工出表面平均粗糙度为 0.2  $\mu\text{m}$  的表面(与精磨加工的表面相似), 产生 7  $\mu\text{m}$  厚的再沉积层和 70  $\mu\text{m}$  的硬化层<sup>[28]</sup>。

准分子激光照射可消除机械加工所产生的表面小划痕, 使表面光滑。但 ArF 准分子激光 ns 脉冲周期的激光烧蚀对钛表面可产生带轮缘的孔。由于轮缘在植入过程中会从植入体表面脱落并损害周围的生物组织, 为了避免这些易碎轮缘的形成, 可采用 0.5 ps 的 KrF 准分子激光脉冲烧蚀, 从而可获得无轮缘的钛表面<sup>[63]</sup>。此外, 激光抛光可使氧化层厚度增加 2 倍以上, 这有利于采用激光技术来获得更好的骨整合<sup>[57]</sup>。

总之, 表面粗糙度可影响细胞基因表达、细胞取向、黏附类型, 导致细胞黏附的变化。而且, 太光滑或太粗糙的表面均对细胞的黏附不利, 其粗糙度阈值还没有定论, 这与表面加工方法、细胞类型和表面粗糙度评价参数等方面有关, 有待于进一步研究。

## 3 表面粗糙度影响细胞黏附数学模型

利用数学模型可以分析细胞对不同粗糙表面的生物反应, 并进一步优化植入体的表面结构, 从而降低成本缩短植入期。

### 3.1 细胞/细胞间质/材料基质黏附模型

用黏附参数(即分离指数)建立细胞黏附模型, 分离指数越低, 细胞黏附越高。建立给定表面粗糙度下培养时间与人体成骨细胞分离指数比 (Detachment index percentage, DIP), 考虑到增殖, 选表面粗糙度参数  $R_z$ , 则<sup>[20]</sup>

$$A(t) = \frac{\beta_1}{1 + \exp(\beta_2(t - t_0) + \beta_4(t - t_0)R_z - \beta_3)} \quad (1)$$

式中  $A(t)$ ——分离指数比  
 $t, t_0$ ——培养时间和培养初始时间  
 $\beta_1$ ——培养初始时试验样本与参照样本比较的平均反应  
 $\beta_2$ ——理想光滑表面 CMS 的黏附速度  
 $\beta_3$ ——初始附着长度,  $\beta_3$  越小初始黏附越快  
 $\beta_4$ ——表面微观粗糙度  $R_z$  的影响因子

由式(1)可见成骨细胞分离指数比随培养时间和表面粗糙度  $R_z$  增加而降低<sup>[20]</sup>, 即细胞黏附增加。

### 3.2 成骨细胞长期黏附与表面形貌有序性的关系

细胞培养过程中, 细胞将在基质表面沉积。胰蛋白酶刺激可分离原已沉积的细胞。在给定的刺激时间内分离细胞数越少, 则细胞黏附力越强。

设单个细胞在胰蛋白酶刺激时间分离所需的时间满足指数定律<sup>[22]</sup>

$$t_c(t) = at^b \quad a \geq 0, b \geq 0 \quad (2)$$

式中  $t_c$ ——单个细胞在胰蛋白酶刺激时间分离所需的时间

$a$ ——黏附能  $E_{AP}$ , 与表面形貌有关, 可很好地区分不同加工表面的细胞黏附<sup>[64]</sup>

$b$ ——长期黏附的运动指数, 与基质特性(材料属性、表面形貌和表面化学成分)无关,  $b=0.50 \pm 0.03$ <sup>[23]</sup>

式(2)定量描述人体成骨细胞在基质表面无增殖地培养了  $t$  时间后的细胞黏附。 $t_c$  是培养时间  $t$  的增函数, 培养时间  $t$  越长, 细胞长期黏附力会越大。

ANSELME 等<sup>[22]</sup>用非线性最小二乘法结合  $O_{order}$  参数拟合了黏附能参数( $E_{AP}$ ), 它描述人体成骨细胞长期黏附性。其关系为

$$E_{AP}(O_{order}) = \frac{16}{(O_{order} - 13.8)^{0.187}} \quad (3)$$

式中  $O_{order}$ ——表面形貌有序性<sup>[20-21,65]</sup>, 其值在 0(白噪声)至 100(无噪声的完全周期轮廓)间, 描述表面粗糙度组织性, 可定量分析不同加工方法对表面形貌的影响

式(3)回归系数  $r = 0.994$ 。电解腐蚀表面  $O_{order} = 13.9$ (接近最优值 13.8), 细胞黏附最佳; 最低黏附值为  $E_{AP}(100) = 7$ , 为准完全有序表面, 车削表面  $E_{AP}(49.0) = 7.4$  接近该值<sup>[22]</sup>。

由式(1)~(3)和试验<sup>[20]</sup>表明, 表面宏观粗糙度下, 在  $R_z$  大且  $O_{order}$  小的钛表面人体成骨细胞更易黏附增殖; 而表面微观粗糙度下, 在  $R_z$  大且分维数

$\Delta$ 小的表面人体成骨细胞更易黏附增殖。分维数大的表面(在低于细胞大小尺度下, 表面杂乱、不规则)CMS 黏附率和增殖量较低<sup>[51]</sup>。因为表面分维数越大, 细胞和植入体间的接触面积越小<sup>[20]</sup>, 不能建立足够的接触面积, 所以过于杂乱的表面细胞黏附量少<sup>[52]</sup>。

## 4 钛表面细胞吸附的分子动力学

一般认为大于  $10 \mu\text{m}$  的微粗糙表面会影响种植体与组织界面的机械特性、应力分布和传递方式、界面机械锁合效应, 还影响生物相容性; 而  $10 \text{nm} \sim 10 \mu\text{m}$  的表面微粗糙度的变动对界面的力学特性影响较弱, 但对生物相容性的影响更显著, 因其尺寸范围与细胞尺寸及生物大分子尺寸数量级相同<sup>[66]</sup>;  $10 \text{nm}$  以下的表面微粗糙度的变动也对界面结构产生重要影响, 因这样的尺寸包含了材料的本身缺陷(如空位、晶界和台阶等), 而缺陷区又是吸附的活性区域, 将影响生物分子与种植体表面的结合<sup>[67]</sup>。分子动力学方法正好可以从原子尺度来研究分子的运动特性及表面微观特征对细胞黏附的影响机理。

细胞黏附是基于整联蛋白受体与细胞外基质 ECM 中配体的相互识别和作用<sup>[19]</sup>。事实上, 在众多调控细胞黏附和迁移的细胞外基质蛋白中, 如纤连蛋白、玻连蛋白和胶原等, 它们多数含有精氨酸—甘氨酸—天冬氨酸肽序列(Arg-Gly-Asp, RGD)。含 RGD 的肽链通过与细胞表面受体整联蛋白  $\alpha 5 \beta 1$ 、 $\alpha x \beta 1$  和  $\alpha 3 \beta 1$  亚基相连来调控细胞的黏附<sup>[9]</sup>。

多数学者<sup>[68]</sup>采用分子动力学方法主要研究了蛋白质、核酸等生物分子的生物特性及与其他有机分子的相互作用, 对细胞与植入体的黏附性研究甚少。哈尔滨工业大学精密工程研究所将分子动力学方法用于研究肽链在钛表面的吸附过程, 从分子角度研究其吸附机理。从图 13b 和 13c 中可以看出, RGD 链羧基( $-\text{COO}$ )氧与钛表面的 Ti 吸附成键, 同时也影响了周围表面原子的分布。HASSENBEIN 等<sup>[69]</sup>的试验研究也证实了可在生物材料表面进行细胞黏附肽图案化。

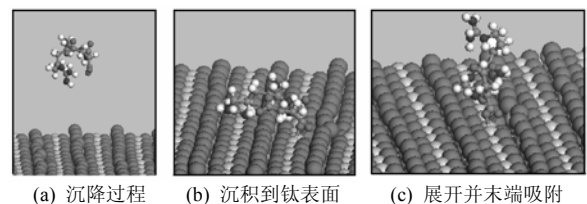


图 13 RGD 肽链在钛表面粘附过程示意图

## 5 结论

钛系植入体表面粗糙度影响细胞黏附研究已经取得很大的进展,但仍存在一些问题。细胞黏附的试验研究表明,即使某些表面粗糙度参数值相同,其他粗糙度参数值不同或表面加工方法不同,细胞反应也不尽相同。因此,选取与植入体生物反应最相关的综合性表面形貌评价参数,结合加工方法考虑植入体表面形貌对细胞黏附的影响,研究细胞更易于黏附的表面加工方法;采用分子动力学、蒙特卡洛或第一原理等计算机仿真方法,在分子水平研究钛植入体表面细胞黏附机理;从计算仿真和试验研究角度讨论钛金属生物材料最合适的表面粗糙度范围。这些方面都值得进一步探讨和深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 莱茵斯 C, 皮特尔斯 M. 钛与钛合金[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.  
LEYENS C, PEPERS M. Titanium and titanium alloys[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [2] ALBREKTSSON T, BRANEMARK P I, HANSSON H A, et al. The interface zone of inorganic implants in vivo: titanium implants in bone[J]. *Ann. Biomed. Eng.*, 1983, 11(1): 1-27.
- [3] ZINGER O, ANSELME K, DENZER A, et al. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography[J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 2 695-2 711.
- [4] RICH A, HARRIS A K. Anomalous preferences of cultured macrophages for hydrophobic and roughened substrata[J]. *J. Cell. Sci.*, 1981, 50: 1-7.
- [5] KIM H K, JANG J W, LEE C H. Surface modification of implant materials and its effect on attachment and proliferation of bone cells[J]. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2004, 15: 825-830.
- [6] FENG B, WENG J, YANG B C, et al. Characterization of surface oxide films on titanium and adhesion of osteoblast [J]. *Biomaterials*, 2003, 24: 4 663-4 670.
- [7] ANSELME K. Osteoblast adhesion on biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2000, 21: 667-681.
- [8] KASEMO B. Biological surface science[J]. *Surface Science*, 2002, 500: 656-677.
- [9] 姚康德, 尹玉姬. 组织工程相关生物材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.  
YAO Kangde, YIN Yuji. Biomaterials related to tissue engineering[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [10] ORSELLO C E, LAUFFENBURGER D A, HAMMER D A. Molecular properties in cell adhesion: a physical and engineering perspective[J]. *Trends In Biotech.*, 2001, 19: 310-316.
- [11] RICHAEDES R G. The effect of surface roughness on fibroblast adhesion in vitro[J]. *Injury*, 1996, 27(suppl. 3): 38-43.
- [12] KILPADI D V, LEMONS J E. Surface energy characterization of unalloyed titanium implants[J]. *J Biomed. Mater. Res.*, 1994, 28(12): 1 419-1 425.
- [13] ANSELME K, LINEZ P, BIGERELLE M, et al. The relative influence of the topography and chemistry of TiAl6V4 surfaces on osteoblastic cell behaviour[J]. *Biomaterials*, 2000, 21(15): 1 567-1 577.
- [14] VAN KOOTEN T G, SCHAKENRAAD J M, VAN DER MEI H C, et al. Influence of substratum wettability on the strength of adhesion of human fibroblasts[J]. *Biomaterials*, 1992, 13: 897-904.
- [15] REDEY S A, RAZZOUK S, REY C, et al. Osteoclast adhesion and activity on synthetic hydroxyapatite, carbonated and natural calcium carbonate: relationship to surface energies[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 45: 140-147.
- [16] SCHAKENRAAD J M, BUSSCHER H J, WILDEVUUR C R H, et al. The influence of substratum surface free energy on growth and spreading of human fibroblasts in the presence and absence of serum proteins[J]. *J. Biomed. Mat. Res.*, 1986, 20: 773-784.
- [17] TER BRUGGE P J, DIEUDONNE S, JANSEN J A. Initial interaction of U2OS cells with noncoated and calcium phosphate coated titanium substrates[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 61: 399-407.
- [18] MARTIN J Y, SCHWARTZ Z, HUMMERT W, et al. Bone healing after bone marrow stromal cell transplantation to the bone defect[J]. *Biomaterials*, 1993, 14(1): 115-119.
- [19] SINGHVI R, STEPHANOPOULOS G, WANG H C. Review: effects of substratum morphology on cell physiology[J]. *Biotech. Bioeng.*, 1994, 43: 764-771.
- [20] BIGERELLE M, ANSELME K, NOEL B, et al. Improvement in the morphology of Ti-based surfaces: a new process to increase in vitro human osteoblast response[J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 1 563-1 577.
- [21] ANSELME K, BIGERELLE M, NOEL B, et al. Effect of grooved titanium substratum on human osteoblastic cell growth[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 60: 529-540.
- [22] ANSELME K, BIGERELLE M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion[J]. *Acta Biomaterialia*, 2005, 1: 211-222.
- [23] BIGERELLE M, ANSELME K. A kinetic approach to osteoblast adhesion on biomaterial surface[J]. *J. Biomed.*

- Mater. Res., 2005, 75A: 530-540.
- [24] CLARK P, CONNOLLY P, CURTIS A S G. Cell guidance by ultrafine topography in vitro[J]. *J. Cell. Sci.*, 1991, 99: 73-77.
- [25] CURTIS A, WILKINSON C. Topographical control of cells[J]. *Biomaterials*, 1997, 18: 1 573-1 583.
- [26] DEN BRABER E T, DERUIJTER J E, SMITS H T, et al. Effect of parallel surface microgrooves and surface energy on cell growth[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995, 29: 511-518.
- [27] DEN BRABER E T, DERUIJTER J E, SMITS H T, et al. Quantitative analysis of fibroblast morphology on microgrooved surfaces with various groove and ridge dimensions[J]. *Biomaterials*, 1996, 17: 2 037-2 044.
- [28] HUANG H H, HO C T, LEE T H, et al. Effect of surface roughness of ground titanium on initial cell adhesion[J]. *Biomol. Eng.*, 2004, 21: 93-97.
- [29] LINEZ-BATAILLON P, MONCHAU F, BIGERELLE M, et al. In vitro MC3T3 osteoblast adhesion with respect to surface roughness of Ti6Al4V substrate[J]. *Biomol. Eng.*, 2002, 19: 133-141.
- [30] EISENBARTH E, MEYLE J, NACHTIGALL W, et al. Influence of the surface structure of titanium materials on the adhesion of fibroblasts[J]. *Biomaterials*, 1996, 17: 1 399-1 403.
- [31] KAPANEN A, DANILOV A, LEHENKARI P, et al. Effect of metal alloy surface stresses on the viability of ROS-17/2.8 osteoblastic cells[J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 3 733-3 740.
- [32] DELIGIANNI D D, KATSALA N, LADAS S, et al. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption[J]. *Biomaterials*, 2001, 22: 1 241-1 251.
- [33] BOWERS K T, KELLER J C, RANDOLPH B A, et al. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro[J]. *Int. J. Oral Maxillofac Implants*, 1992, 7: 302-310.
- [34] MUSTAFA K, WENNERBERG A, WROBLEWSKI J, et al. Determining optimal surface roughness of TiO<sub>2</sub> blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells derived from human mandibular alveolar bone[J]. *Clin. Oral Implant Res.*, 2001, 12: 515-525.
- [35] MUSTAFA K, WROBLEWSKI J, HULTENBY K, et al. Effects of titanium surfaces blasted with TiO<sub>2</sub> particles on the initial attachment of cells derived from human mandibular bone. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis[J]. *Clin. Oral Implant Res.*, 2000, 11: 116-128.
- [36] LEE T M, TSAI R S, CHANG E, et al. The cell attachment and morphology of neonatal rat calvarial osteoblasts on the surface of Ti6Al4V and plasma-sprayed HA coating: effects of surface roughness and serum contents[J]. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2002, 13: 341-350.
- [37] WIRTH C, COMTE V, LAGNEAU C, et al. Nitinol surface roughness modulates in vitro cell response: a comparison between fibroblasts and osteoblasts[J]. *Mater. Sci. Eng. C*, 2005, 25: 51-60.
- [38] KAPANEN A, ILVESARO J, DANILOV A, et al. Behaviour of Nitinol in osteoblast-like ROS-17 cell cultures[J]. *Biomaterials*, 2002, 23 (3): 645-650.
- [39] PONSONNET L, COMTE V, OTHMANE A, et al. Effect of surface topography and chemistry on adhesion, orientation and growth of fibroblasts on nickel-titanium substrates[J]. *Mater. Sci. Eng. C*, 2002, 21: 157-165.
- [40] PONSONNET L, REYBIER K, JAFFREZIC N, et al. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour[J]. *Mater. Sci. Eng. C*, 2003, 23: 551-560.
- [41] TRIGWELL S, HAYDEN R D, NELSON K F, et al. Effects of surface treatment on the surface chemistry of NiTi alloy for biomedical applications[J]. *Surf. Interface Anal.*, 1998, 26: 483-489.
- [42] TRIGWELL S, DE S, SHARMA R, et al. Structural evaluation of radially expandable cardiovascular stents encased in a polyurethane film[J]. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 2006, 76B: 241-250.
- [43] ARMITAGE D A, GRANT D M. Characterisation of surface-modified nickel titanium alloys[J]. *Mat. Sci. Eng. A*, 2003, 349: 89-97.
- [44] KANAGARAJA S, WENNERBERG A, ERIKSSON C, et al. Cellular reactions and bone apposition to titanium surfaces with different surface roughness and oxide thickness cleaned by oxidation[J]. *Biomaterials*, 2001, 22: 1 809-1 818.
- [45] KIESWETTER K, SCHWARTZ Z, HUMMERT T W, et al. Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1996, 32: 55-63.
- [46] BOYAN B D, BATZER R, KIESWETTER K, et al. Titanium surface roughness alters responsiveness of MG63 osteoblast-like cells to 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 39: 77-85.
- [47] KAPANEN A, KINNUNEN A, RYHANEN J, et al. TGF- $\beta$ 1 secretion of ROS-17/2.8 cultures on NiTi implant material[J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 3 341-3 346.
- [48] RONOLD H J, ELLINGSEN J E. Effect of micro-

- roughness produced by TiO<sub>2</sub> blasting-tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants[J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 4 211-4 219.
- [49] GOTFREDSEN K, WENNERBERG A, JOHANSSON C, et al. Anchorage of TiO<sub>2</sub>-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995, 29: 1 223-1 231.
- [50] APARICIO C, GIL F J, PLANELL J A, et al. Human-osteoblast proliferation and differentiation on grit-blasted and bioactive titanium for dental applications[J]. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2002, 13: 1 105-1 111.
- [51] MUSTAFA K, RUBINSTEIN J, LOPEZ B S, et al. Production of transforming growth factor beta1 and prostaglandin E2 by osteoblast-like cells cultured on titanium surfaces blasted with TiO<sub>2</sub> particles[J]. *Clin. Oral Implants Res.*, 2003, 14(1): 50-56.
- [52] ANSELME K, BIGERELLE M, NOEL B, et al. Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, 49(2): 155-166.
- [53] RONOLD H J, LYGSTADAAS S P, ELLINGSEN J E. Analysing the optimal value for titanium implant roughness in bone attachment using a tensile test[J]. *Biomaterials*, 2003, 24: 4 559-4 564.
- [54] LÜTHEN F, LANGE R, BECHER P, et al. The influence of surface roughness of titanium on  $\beta$ 1- and  $\beta$ 3-integrin adhesion and the organization of fibronectin in human osteoblastic cells[J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 2 423-2 440.
- [55] PANKOV R, CUKIERMAN E, KATZ B Z, et al. Integrin dynamics and matrix assembly: tensin-dependent translocation of  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 integrins promotes early fibronectin fibrillogenesis[J]. *J. Cell Biol.*, 2000, 148: 1 075-1 090.
- [56] PERRIN D, SZMUKLER-MONCLER S, ECHIKOU C, et al. Bone response to alteration of surface topography and surface composition of sandblasted and acid etched (SLA) implants[J]. *Clin. Oral Impl. Res.*, 2002, 13: 465-469.
- [57] ERIKSSON C, LAUSMAA J, NYGREN H. Interactions between human whole blood and modified TiO<sub>2</sub>-surfaces: Influence of surface topography and oxide thickness on leukocyte adhesion and activation[J]. *Biomaterials*, 2001, 22: 1 987-1 996.
- [58] CISSE O, SAVADOGO O, WU M, et al. Effect of surface treatment of NiTi alloy on its corrosion behavior in Hanks' solution[J]. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 61: 339-345.
- [59] CURTIS A, CLARK P. The effect of topographic and mechanical properties of materials on cell behavior[J]. *Crit. Rev. Biocompat.*, 1990, 5: 343-362.
- [60] 沈阳, 王贵学, 全学军, 等. NiTi 合金血管内支架表面改性及其生物相容性研究[J]. *中国医疗器械杂志*, 2006, 30(1): 3-6, 38.
- SHEN Yang, WANG Guixue, QUAN Xuejun, et al. Study on surface modification and biocompatibility of NiTi alloy intravascular stents[J]. *Chinese Journal of Medical Instrumentation*, 2006, 30(1): 3-6, 38.
- [61] POSTIGLIONE L, DOMENICO G D, RAMAGLIA L, et al. Behavior of SaOS-2 cells cultured on different titanium surfaces[J]. *J. Dent. Res.*, 2003, 82(9): 692-696.
- [62] BRETT P M, HARLE J, SALIH V, et al. Roughness response genes in osteoblasts[J]. *Bone*, 2004, 35: 124-133.
- [63] BEREZAI M, PELSÖCZI I, TÓTH Z, et al. Surface modifications induced by ns and sub-ps excimer laser pulses on titanium implant material[J]. *Biomaterials*, 2003, 24: 4 197-4 203.
- [64] BIGERELLE M, NAJJAR D, IOST A. Relevance of roughness parameters for description and modelling of machined surfaces[J]. *J. Mater. Sci.*, 2003, 38: 2 525-2 536.
- [65] BIGERELLE M, ANSELME K, DUFRESNE E, et al. An unscaled parameter to measure the order of surfaces. A new surface elaboration to increase cells adhesion[J]. *Biomol. Eng.*, 2002, 19: 79-83.
- [66] KASEMO B. Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects[J]. *J. Prosth. Dent.*, 1983, 49: 832-827.
- [67] KASEMO B, LAUSMAA J. Material selection surface characteristics and chemical processes at implant surface [M]. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc., 1985.
- [68] KARPLUS M, MCCAMMON J A. Molecular dynamics simulations of bimolecular[J]. *Nature Structural Biology*, 2002, 9: 646-652.
- [69] HASENBEIN H E, ANDREN T T, BIZIOS R. Micro-patterned surfaces modified select peptides promote exclusive interactions with osteoblasts[J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 3 937-3 942.

作者简介: 梁迎春, 男, 1964 年出生, 教授, 博士生导师。主要研究方向为超精密加工及纳米技术、现代机械设计理论与方法、生物制造工程, 已发表论文 70 余篇。

E-mail: ycliang@hit.edu.cn